

## Área: Ciência de Alimentos

# IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AMORA-PRETA (*Rubus fruticosus*) cv. TUPY

Suzane Rickes da Luz\*, Andressa Carolina Jacques, Fabio Clasen Chaves, Rui Carlos  
Zambiasi

*Laboratório de Cromatografia, Depto Ciência e Tecnologia Agroindustrial, FAEM, Universidade  
Federal de Pelotas*

*\*E-mail: suzamerickes@gmail.com*

## RESUMO

A identificação dos compostos responsáveis pelo odor e sabor característico das frutas justifica-se pela importância que estes desempenham na qualidade dos frutos e seus produtos. A pesquisa dos constituintes voláteis do odor e sabor podem fornecer informações que irão orientar medidas adequadas ao processamento e à comercialização, para a obtenção de um produto final de alta qualidade. Em face do exposto o objetivo deste estudo foi o de identificar os compostos voláteis presentes em frutos de amora-preta cv. Tupy produzidos na cidade de Morro Redondo, RS. Os compostos voláteis foram coletados em fibras DVB/CAR/PDMS 50/30 Stableflex e as análises cromatográficas desses compostos foram realizadas em GC/qMS. Dentre os voláteis identificados na cultivar 'Tupy' estão importantes componentes do flavor de pequenas frutas incluindo hidrocarbonetos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres e terpenoides. Alguns ainda não haviam sido anteriormente descritos como voláteis de amora enquanto outros são compostos associados a notas típicas do sabor de amora.

**Palavras-chave:** voláteis, amora-preta, SPME

## 1 INTRODUÇÃO

O flavor é a denominação da combinação de sabor e aroma e é um fator crucial para a aceitação de um produto, uma vez que é o mais importante atributo de qualidade. No caso do flavor de frutas, os componentes voláteis são produzidos através do metabolismo durante o amadurecimento, colheita, pós-colheita e armazenamento da fruta, e sua produção depende de muitos fatores relativos à espécie, variação e tipo de tratamento tecnológico (Kataoka, et al.,

2000). Os voláteis afetam diretamente a qualidade sensorial dos produtos frescos e processados (Riu-Aumatel, et al., 2004). O aroma é formado por um complexo grupo de substâncias químicas como, por exemplo, aldeídos, álcoois, cetonas, ésteres, hidrocarbonetos. Um dos fatores que contribuem para a popularidade do produto é a combinação de qualidade e quantidade destes compostos aromáticos (Jordan et al., 2004). O metabolismo de frutos durante o amadurecimento, e durante o manejo pos-colheita são determinantes na produção de compostos voláteis, que também são influenciados por fatores como o estágio de maturação, condições de cultivo e espécie e cultivar (Christensen, Edelenbos, & Kreutzmann, 2007; Riu-Aumatell, Castellari, López-Tamames, Galassi, & Buxaderas, 2004).

Atualmente, diferentes métodos têm sido utilizados para a análise de aroma, porém existe uma técnica rápida, simples e barata chamada SPME (micro extração em fase sólida). (Turemis, et al., 2003). Esta é uma técnica de adsorção/dessorção que elimina a necessidade de utilização de solventes orgânicos ou instrumentos complicados para a extração e concentração de compostos voláteis a partir de amostras líquidas ou gasosas.

O Brasil possui uma diversidade natural de frutos, cultivados em condições climáticas diferentes, o que ocasiona diferentes aromas e sabores. Esta diversidade representa uma área promissora para pesquisa em razão de muitos frutos ainda não terem sido caracterizados. No Brasil, a cultura da amora-preta foi introduzida na década de 70, no Rio Grande do Sul, pela Estação Experimental de Pelotas, atual Embrapa Clima Temperado. Esta cultura apresentou boa adaptação e tem alcançado alta produtividade devido às condições climáticas desta região, a qual permite o cultivo de frutas das espécies de clima temperado (Antunes, 2002, Antunes e Raseira, 2004). Apesar de varios estudos terem analisado volateis de diferentes especies do genero *Rubus* (Kallio e Linko, 1973; Malowicki, Martin, e Qian, 2008; Malowicki, Martin, e Qian, 2008b; Meret, Brat, Mertz, Lebrun, e Gunata, 2011) e diferentes cultivares de amora (Du, Finn, & Qian, 2010; Du, Finn, & Qian, 2010b; Du, Finn, & Qian, 2010c; Du, Kurnianta, McDaniel, Finn, & Qian, 2010d; Georgilopoulos & Gallois 1987; Klesk & Qian, 2003; Klesk & Qian, 2003b; Wang, Finn, & Qian, 2005) nao ha trabalhos investigando volateis produzidos por amora-preta (*Rubus fruticosus*) da cultivar Tupy.

Como parte de uma iniciativa para promover a aceitação dos consumidores através do aumento de informação científica sobre os atributos de qualidade deste cultivo que se encontra em fase de expansão este estudo buscou identificar os principais compostos voláteis,

utilizando técnica SPME/HS, produzidos pela amora-preta da cultivar Tupy produzida no sul do Rio Grande do Sul.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 MATERIAL E MÉTODOS**

As amostras de amora-preta cultivar Tupy foram obtidas de um produtor na cidade de Morro Redondo/RS/Brasil, no ano de 2009 e conservadas em ultra freezer à  $-80^{\circ}\text{C}$  até serem analisadas.

A amora triturada ( $3 + 0,05\text{g}$ ) foi transferida para um frasco de 15mL contendo 3 mL de água e 1g de NaCl (adicionado para aumentar a extratibilidade dos compostos). O sistema foi aquecido a  $60^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos e a fibra foi exposta ao headspace durante 30 minutos seguindo metodologia descrita por Augusto (2000). As fibras utilizadas (DVB/CAR/PDMS 50/30 Stableflex) foram obtidas da Supelco, (Bellefonte, PA, USA). A injeção da amostra foi realizada colocando-se a fibra por 5 minutos no injetor do cromatografo.

As análises cromatográficas de compostos voláteis foram realizadas em GC/qMS (GCMS-QP5050, Shimadzu) equipado com coluna OV5 (Ohio Valley Specialty Chemical, Estados Unidos), com comprimento 30m, diâmetro interno 0,25mm e espessura de filme  $0,25\mu\text{m}$ , gás de arraste hélio com pureza analítica de 99,99% (WhiteMartins, Brasil). As condições operacionais foram: programa de temperatura inicial a  $60^{\circ}\text{C}$  com rampa de aquecimento de  $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$  até  $250^{\circ}\text{C}$ ; injetor e detector  $250^{\circ}\text{C}$ ; fluxo do gás de arraste: 50ml/min; split 1:10. Espectrometria de massas com ionização por feixe de elétrons: faixa de varredura: 45m/z a 400m/z; velocidade do escaneamento 1000amu/s; voltagem do detector 2 KV; intervalo do escaneamento 0,5s.

### **2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A tabela 1 mostra os 40 compostos voláteis identificados na amora-preta por SPME utilizando fiber DVB/CAR/PDMS.

Tabela 1. Compostos identificados em amora-preta cv. Tupy por SPME

| Picos | TR   | Composto  |
|-------|------|---|
| 1     | 1,5  | 2-propanona   |
| 2     | 1,7  | 2-butanona  |
| 3     | 2,1  | Heptano   |
| 4     | 2,6  | Tolueno   |
| 5     | 2,8  | Texanal   |
| 6     | 3,5  | 2-hexenal   |
| 7     | 3,7  | 1-hexanol   |
| 8     | 4,0  | 2-heptanone   |
| 9     | 4,1  | 2-heptanol  |
| 10    | 4,7  | $\alpha$ -pineno  |
| 11    | 5,1  | Camfeno   |
| 12    | 5,7  | $\beta$ -pineno   |
| 13    | 5,9  | $\beta$ -myrceno  |
| 14    | 6,1  | hexanoato de etila  |
| 15    | 6,9  | Limoneno  |
| 16    | 7,6  | $\alpha$ -terpineno   |
| 17    | 7,8  | 1-octanol   |
| 18    | 8,3  | Terpinoleno   |
| 19    | 8,6  | Linalol   |
| 20    | 8,7  | Nonanal   |
| 21    | 9,2  | octanoato de metila   |
| 22    | 9,7  | Isopinocarveol  |
| 23    | 10,7 | 4-terpineol   |
| 24    | 10,9 | p-cymen-8-ol  |
| 25    | 11,0 | butanoato de hexila   |
| 26    | 11,1 | octanoato de etila  |
| 27    | 11,2 | 2-hidroxi-benzoato de metila                                    |
| 28    | 11,4 | Decanal   |
| 29    | 12,6 | (-)-carvona   |
| 30    | 12,8 | Geraniol  |
| 31    | 12,9 | 2-decenal   |
| 32    | 14,1 | 2,6,10,10-tetrametil-1-oxa-spiro[4.5]dec-6-eno                  |
| 33    | 16,2 | Copaeno   |
| 34    | 18,1 | 6,10-dimetil-5,9-undecadien-2-ona                               |
| 35    | 18,8 | 3-isopropenil-1-isopropil-4-metil-4-vinil-1-ciclohexeno         |
| 36    | 19,7 | 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol                          |
| 37    | 20,0 | 1-isopropil-4,7-dimetil-1,2,3,5,6,8 $\alpha$ -hexaidronaftaleno |
| 38    | 24,0 | Heptadecane   |
| 39    | 28,9 | hexadecanoato de metila   |
| 40    | 32,4 | 9-octadecenoato de metila                                       |

TR – Tempo de retenção

A formação de compostos voláteis aumenta rapidamente, seguindo a formação de pigmentação durante o amadurecimento quando o metabolismo de varias rotas é ativado.

Os compostos 2-heptanol e p-cymen-8-ol observados na amora preta da cv. *Tupy* já haviam sido identificados como os mais importantes componentes voláteis de aroma e sua contribuição tendo sido descrita respectivamente como frutada e floral. (Ibáñez et al., 1998).

O composto linalol encontrado na amora-preta é responsável pelos aromas floral e lavanda. A conversão de beta-caroteno em alfa-ionona e outros compostos com ionona substituinte e/ou seus produtos de oxidação, bem como a conversão de outros carotenóides em linalol, aldeídos terpênicos e cetonas já foram relatadas e são dependentes da concentração e do tipo de carotenóides presentes, bem como da presença de antioxidantes, notadamente os polifenóis (Bastos et al., 2007).

Os compostos 2-heptanone, geraniol, limonene, linalol, alfa-pineno, 4-terpineol foram encontrados em estudo realizados com framboesa que pertence à mesma família *Rubus* da amora-preta (Malowicki, et al., 2008). De acordo com Bastos (2007) é provável que compostos terpênicos, seus óxidos, cetonas e alcoóis (limoneno, linalol, óxidos *cis* e *trans* linalol), além dos produtos de degradação de carotenóides sejam de importância para a qualidade sensorial destes produtos, no entanto, é imprescindível a avaliação olfatométrica destes compostos para se determinar sua importância odorífera.

Os compostos voláteis de aroma podem aumentar, manter níveis estáveis ou diminuir durante o amadurecimento devido a diferentes vias envolvidas na formação de voláteis (Kawakami, M.; Kobayashi, 1991). Hexanal e 2-hexenal podem ser gerados a partir da oxidação ou degradação da lipoxigenase (Sanz, 1997) e suas concentrações diminuem durante a maturação.

Klesk e Qian (2003b) compararam voláteis de amoras Marion (*Rubus spp. Hyb*) e Evergreen (*R. laciniatus L.*) e encontraram mais esterés em Marion, enquanto a Evergreen apresentou mais alcoóis.

Wang et al. (2005) estudaram amoras produzidas em regiões distintas nos Estados Unidos, em Oregon e Arkansas. Apesar das composições de ambas serem parecidas as de Oregon predominaram butanoato de etila, linalool, metional, *trans*, *cis*-2,6-nonadienal, *cis*-1,5-octadien-3-ona, e 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanona, e no Arkansas, o predomínio foi butanoato de etila, linalool, metional, 2-metilbutanoato de etila, beta-damascenona, e geraniol.

Du et al. (2010) identificou furaneol, linalool, beta-ionona, 2-heptanol e carvona como os principais compostos em 'Marion' e amoras sem espinhos. Além disso, eles propuseram que o furaneol, linalool, geraniol, hexanoato de etila, *trans*-2-hexenol e beta-ionona sendo os responsáveis pelo flavor referente a fruta fresca, floral, morango e framboesa enquanto 1-octen-3-ol, mirtenol, eugenol, e alfa-terpineol são responsáveis pelo flavor vegetal, madeira, mofo e sabor de fruta cozida.

2-heptanol, 1-hexanol, 1-octanol, hexanal, nonanal, 2-decenal, 2-heptanone e metil salicilato encontrados em 'Tupy' foram previamente identificados por Meret et al. (2011) em amoras andina (*Rubus glaucus Benth.*). De acordo, Meret et al. (2011), o excesso de 2-heptanol (70 ppm), contribui para o aroma de amora.

2-butanona, hexenal, e nonanal foram previamente identificados por Kallio e Linko (1973) em *Rubus arcticus L.*

Georgilopoulos e Gallois (1988) identificaram a presença de furfural, 3-metil-butanal, 3-metil-1-butanol, fenilacetaldéido como os principais compostos responsáveis pelo aroma do suco de amora.

Georgilopoulos and Gallois (1987) encontraram alcoóis, furanos e aldeídos como as classes químicas predominantes em sucos que passaram por tratamento térmico, sendo os mais abundantes o 2-heptanol de amora cultivada e o furfural de amora silvestres.

A aroma de amoras frescas (*Rubus laciniata L.*) é caracterizado principalmente pela presença de 2-heptanol, para-cimen-8-ol, 2-heptanona, 1-hexanol, alfa-terpineol, pulegone, 1-octanol, isoborneol, mirtenol, 4-terpineol, carvona, elemicina, e nonanal (Georgilopoulos & Gallois, 1987b).

Sucos contendo amora e outras pequenas frutas apresentaram 6-metil-5-hepten-2-ona, alfa-terpineol, e *E*-nerol (Vazquez-Araujo et al., 2010).

Heptanol e para-cimen-8-ol foram identificados como os componentes voláteis mais importantes do flavor de amora e sua característica sensorial foi descrita como frutal e floral respectivamente (Ibáñez, López-Sebastián, Ramos, Javier, & Reglero, 1998).

Du et al. (2010) estudou voláteis das cultivares 'Black Diamond', uma amora sem espinho, de frutos grande considerada como padrão industrial e 'Marion', considerada como possuidora de um flavor ideal. Furaneol, linalool, beta-ionona, e hexanal foram os compostos predominantes em 'Marion', enquanto em 'Black Diamond', linalool, beta-ionona, furaneol, e 2-heptanol foram os que apresentaram com maior importância sensorial.

Beta-carotene pode ser convertido a beta-ionona e outros compostos similares assim como outros carotenóides podem ser convertidos ao linalool e outros aldeídos e cetonas terpenicas.

2-heptanona, geraniol, limonenp, linalol, alfa-pineno e 4-terpineol já foram encontrados em framboesas (Malowicki, et al., 2008).

Hexanal e (*E*)-2-hexenal podem ser gerados a partir da oxidação ou degradação catalizada pela lipoxigenase a partir de ácidos graxos (Sanz, Olías, & Perez, 1997), e assim suas concentrações nos frutos tipicamente diminuem com o a maturação e o amadurecimento. Além disso, alguns dos voláteis identificados aqui já foram associados ao controle de patógenos. Hexanal, 1-hexanol, (*E*)-2-hexen-1-ol, (*Z*)-6-nonenal, (*E*)-3-nonen-2-one, salicilato de metila, e benzoate de metila tem potencial para utilização como fumigantes durante a pos-colheita para o controle de *Botrytis* e foi demonstrado que eles não causam fitotoxicidade em morangos (Archbold, Hamilton-Kemp, Barth, & Langlois, 1997).

### 3 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados levam a conclusão que os principais compostos responsáveis pelo flavor característico de amoras (*Rubus spp.*) também ocorre em amoras ‘Tupy’ (*Rubus fruticosus*) produzidas no sul do rio grande do sul. O que reforça a posição dessa cultivar como sendo considerada de alta qualidade sensorial para o consumo in natura e com potencial aplicação na elaboração de novos produtos.

### REFERÊNCIAS

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. *Ciência Rural*. v.32, n.1, p.151-158, 2002.

ANTUNES, L. E.; RASEIRA, M. C. B. *Aspectos Técnicos da Cultura da Amora-preta*. ISSN 1806-9193 Junho, 2004.

ARCHBOLD, D. D.; HAMILTON-KEMP, T. R.; BARTH, M. M.; & LANGLOIS, B. E., Identifying natural volatile compounds that control gray mold (*Botrytis cinerea*) during postharvest storage of strawberry, blackberry, and grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 45(10), 1997, 4032–4037 p.



- BASTOS, D. H. M.; MACHADO, C. C. B.; JANZANTTI, N. S.; FACANALI, R.; MARQUES, O. M.; FRANCO, M. R. B. *Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (Ilex paraguariensis)* Quim. Nova, v. 30, n. 3, p.513-518, 2007
- CHRISTENSEN, L. P.; EDELENBOS, M.; & KREUTZMANN, S. Fruits and vegetables of moderate climate. In: Flavours and fragrances: *Chemistry, bioprocessing and sustainability*. Ed. Berger, R. G. Publisher, Springer Berlin Heidelberg. 2007, 135–187 p.
- DU, X.; FINN, C. E.; & QIAN, M. C. Bound volatile precursors in genotypes in the pedigree of 'Marion' blackberry (*Rubus sp.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, 2010, 3694–3699 p.
- DU, X.; FINN, C. E.; & QIAN, M. C. Distribution of volatile composition in 'Marion' (*Rubus spp.* Hyb) blackberry pedigree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, 2010b, 3694–3699 p.
- DU, X. F., FINN, C. E., & QIAN, M. C. Volatile composition and odour-activity value of thornless 'Black Diamond' and 'Marion' blackberries. *Food Chemistry*, v. 119(3), 2010c, 1127–1134 p.
- DU, X. F.; KURNIANTA, A.; MCDANIEL, M.; FINN, C. E.; & QIAN, M. C. Flavour profiling of Marion' and thornless blackberries by instrumental and sensory analysis. *Food Chemistry*, v. 121(4), 2010d, 1080–1088 p.
- GEORGILOPOULOS, D. N.; & GALLOIS, A. N. (1987). Aroma compounds of fresh blackberries (*Rubus laciniata* L.). *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, v. 184(5), 1987, 374–380 p.
- GEORGILOPOULOS, D. N.; & GALLOIS, A. N. Volatile flavor compounds in heated blackberry juices. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, v. 185(4), 1987b, 299–306 p.
- GEORGILOPOULOS, D. N.; & GALLOIS, A. N. Flavor compounds of a commercial concentrated blackberry juice. *Food Chemistry*, v. 28(2), 1988, 141–148 p.
- IBÁÑEZ, E.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, S.; RAMOS, E.; JAVIER, T.; & REGLERO, G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, v. 63, 1998, 281–286 p.
- JORDAN, M. J.; TILLMAN, T. N.; MUCCI, B.; LAENCINA, J. Using HSSPME to determine the effects reducing insoluble solids on aromatic composition of orange juice. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* v. 34, n. 04, 2004, 244-250 p.
- KALLIO, H.; & LINKO, R. R. Volatile monocarbonyl compounds of arctic bramble (*Rubus arcticus*) at various stages of ripeness. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, v. 153(1), 1973, 23–30 p.



- KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal Chromatography A*, v. 880, 2000, 35-62 p.
- KAWAKAMI, M.; KOBAYASHI, A.; *J. Agric. Food. Chem.* v. 39, 1991, 1275 p.
- KLESK, K.; & QIAN, M. Aroma extract dilution analysis of cv. Marion (*Rubus spp. Hyb*) and Cv. Evergreen (*R. laciniatus L.*) blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, 2003, 3436–3441 p.
- KLESK, K.; & QIAN, M. Preliminary aroma comparison of Marion (*Rubus spp. Hyb*) and Evergreen (*R. laciniatus L.*) blackberries by dynamic headspace/OSME technique. *Journal of Food Science*, v. 68(2), 2003b, 697–700 p.
- MALOWICKI, S. M. M.; MARTIN, R.; & QIAN, M. C. Comparison of sugar, acids, and volatile composition in raspberry bushy dwarf virus-resistant transgenic raspberries and the wild type 'Meeker' (*Rubus idaeus L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, 2008, 6648–6655 p.
- MALOWICKI, S. M. M.; MARTIN, R.; & QIAN, M. C. Volatile composition in raspberry cultivars grown in the pacific northwest determined by stir bar sorptive extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, 2008b, 4128–4133 p.
- MERET, M.; BRAT, P.; MERTZ, C.; LEBRUN, M.; & GUNATA, Z. Contribution to aroma potential of Andean blackberry (*Rubus glaucus Benth.*). *Food Research International*, v. 44(1), 2011, 54–60 p.
- RIU-AUMATELL, M.; CASTELLARI, M.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; GALASSI, S.; & BUXADERAS, S. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. *Food Chemistry*, v. 87, 2004, 627–637 p.
- SANZ, C.; OLÍAS, J. M.; PEREZ, A. G.; Tomas-Barberan, F. A.; Robins, R. J.; Eds. Aroma biochemistry of fruits and vegetables. In *Phytochemistry of Fruits and Vegetables* Clarendon Press: Oxford, U.K., 1997; 125-155 p.
- TUREMIS, E. K.; KAFKAS, S. M. K.; BASER, K. H. C. Determination of aroma compounds in blackberry by gc/ms analysis *Chemistry of Natural Compounds*, v. 39, n. 2, 2003
- VAZQUEZ-ARAUJO, L.; CHAMBERS, E. I. V.; ADHIKARI, K.; & CARBONELL-BARRACHINA, A. A. Sensory and physicochemical characterization of juices made with pomegranate and blueberries, blackberries, or raspberries. *Journal of Food Science*, v. 75(7), 2010, 398–404 p.
- WANG, Y.; FINN, C.; & QIAN, M. C. Impact of growing environment on Chickasaw blackberry (*Rubus L.*) aroma evaluated by gas chromatography olfactometry dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53(9), 2005, 3563–3571 p.